



## 小角散乱によるタンパク質水和構造の解析

杉本泰伸<sup>1</sup>、松尾龍人<sup>2</sup>、河野史明<sup>2</sup>、藤原悟<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 名古屋大学シンクロトン光研究センター

<sup>2</sup> 量子科学技術研究開発機構

### 1. 背景と研究目的

蛋白質周辺の水は、蛋白質と相互作用するために、バルク水とは異なった性質を持つ。この水和水が蛋白質機能発現に大きな役割を果たすと言われている。水和水の物理化学的性質を明らかにすることは、蛋白質の機能発現の分子機構を理解する上で重要である。X線小角散乱と中性子小角散乱を組み合わせた測定により、蛋白質の水和構造情報を得ることができる[1,2]。本研究では、蛋白質水和構造情報抽出のためのX線および中性子小角散乱測定の一環として、X線小角散乱測定を行った。別途、行われる中性子小角散乱測定と合わせて、蛋白質水和構造の解析を行う。

### 2. 実験内容

蛋白質試料としてRNase A(RN)およびβLactoglobulin (βLg)そしてα-synuclein(αSyn)を用いた。RN及びβLgは典型的な球状蛋白質で、それぞれ2次構造が異なる。さらにβLgは溶液のpHにより、2量体から単量体の変化が起こる。これら2種類の蛋白質については、pH変化による表面電荷分布の変化および(βLgについては)単量体から2量体への変化における水和構造の効果を調べるために、異なったpHでの測定を行った。一方、αSynは天然変性蛋白質であるが、アミロイド線維を形成することが知られている。αSynのアミロイド線維の水和構造を調べるための準備として、アミロイド線維状態のαSynの測定を行った。水和構造抽出のためには、X線小角散乱測定及び、H<sub>2</sub>O中およびD<sub>2</sub>O中の試料の中性子小角散乱測定を行う必要がある[1]。H<sub>2</sub>O中およびD<sub>2</sub>O中で試料状態に変化がないことを確認するために、H<sub>2</sub>O中およびD<sub>2</sub>O中の蛋白質試料のX線小角散乱測定をAichiSR BL8S3(波長:1.5 Å、カメラ長:2 m)にて行った。粒子間干渉効果を除去するために、それぞれの試料について蛋白質濃度シリーズの測定を行った。

### 3. 結果および考察

Figure 1はそれぞれの試料の散乱曲線のギニエ解析から得た慣性半径 $R_g$ および $I(0)/c$  ( $I(0)$ は散乱強度の原点への外挿値、 $c$ は蛋白質濃度)の蛋白質濃度依存性である。RNおよびβLgのいずれも、H<sub>2</sub>OおよびD<sub>2</sub>Oでの結果にほとんど違いはなく、D<sub>2</sub>Oの影響はないことが確認された。また、pHの変化による $R_g$ の変化が観測された。これらのデータを中性子小角散乱データを組み合わせて解析することで、水和構造情報が抽出できることが充分、期待できる。さらにαSynの小角散乱測定により、溶液中の塩濃度により、αSynのアミロイド線維の構造および形成過程が大きく異なることを示唆する結果を得た。現在、詳細な解析中である。

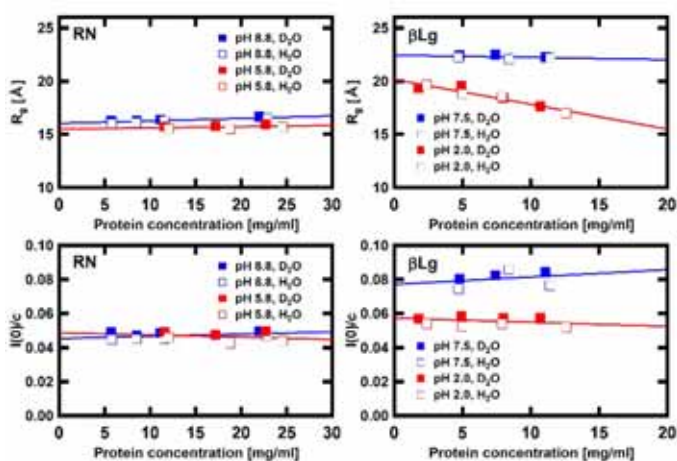


Figure 1.  $R_g$ および $I(0)/c$ の蛋白質濃度依存性

### 4. 参考文献

1. D.I. Svergun, et al., *Proc. Natl. Acaad. Sci. USA* **95** (1998) 2267-2272.
2. T. Matsuo, T. Arata, T. Oda, and S. Fujiwara, *BIOPHYSICS* **9** (2013) 99-106.